



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

### **Síndrome Mielodisplásica em Idade Pediátrica**

Ricardo Silvestre Alves

---

**Junho'2017**



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

## **Síndrome Mielodisplásica em Idade Pediátrica**

Ricardo Silvestre Alves

**Orientado por:**

Dr. Carlos Escobar

---

**Junho'2017**

**Método de revisão:** a informação utilizada nesta revisão sistemática foi retirada de vários artigos científicos e de revisão dos autores citados, pesquisados nas bases de dados do PubMed e Mendeley, assim como da pesquisa no UpToDate e Medscape, utilizando os seguintes termos: *myelodysplastic syndromes, pediatric, children, diagnosis, classification, etiology, genetic, epidemiology, treatment, bone marrow transplant, hematopoietic stem cell transplant* e *guidelines*. Tendo em conta ser um tema com relativamente pouca informação a nível pediátrico, não foram excluídos artigos com base no ano. No entanto, foi dada mais importância a artigos mais recentes, específicos e baseados em casos pediátricos.

## **ABSTRACT**

As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem um grupo heterogêneo de alterações malignas das células estaminais hematopoiéticas caracterizados por displasia e celularidade variável da medula óssea, citopénias progressivas e propensão para transformação em leucemia mieloide aguda (LMA). A SMD é uma das doenças hematológicas malignas mais comuns na população idosa. Apesar de rara em idade pediátrica, esta pode ocorrer tanto *de novo* como secundariamente e pode representar a primeira manifestação de uma Síndrome Hereditária de Falência de Medula Óssea. O diagnóstico pode ser complicado e outras causas com quadros semelhantes devem ser excluídas. Este é, em grande parte, morfológico e depende do aspirado e biópsia de medula óssea. Enquanto grandes avanços foram feitos no conhecimento da SMD em idade adulta, a fisiopatologia e genética subjacente a SMD pediátrica ainda carece de muita informação. A classificação utilizada em pediatria é específica e utiliza diferente terminologia dos adultos. O transplante de células estaminais hematopoiéticas constitui até à data a única opção de tratamento curativa, e deve ser realizado o mais rápido possível pelo risco de progressão para SMD de estadió avançado ou LMA. O prognóstico na infância está maioritariamente dependente e correlacionado com o transplante. Esta revisão tem como objetivo alertar para a existência desta doença, rara em idade pediátrica, e vai incidir na classificação, etiologia e genética, critérios diagnósticos e diagnóstico diferencial, assim como opções terapêuticas e prognóstico.

**Palavras-chave:** síndrome mielodisplásica; pediatria; etiologia; diagnóstico; transplante de células estaminais hematopoiéticas.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina de Lisboa.

## ABSTRACT

Myelodysplastic Syndromes (MDS) comprises a heterogeneous group of malignant hematopoietic stem cell disorders characterized by variable bone marrow dysplasia and cellularity, progressive cytopenias and a propensity for transformation to acute myeloid leukaemia. MDS is the most common malignant blood disorder in the elderly. Despite rare in children, it can occur in both *de novo* and secondary forms and can be the first manifestation of inherited bone marrow failure syndromes. The diagnosis can be difficult and other causes must be ruled out; it is largely a diagnosis of morphology and depends greatly on blood smears and bone marrow aspirate and biopsy. While rapid advancements have been made in the field of adult MDS, the underlying genetics and pathophysiology of paediatric MDS are still poorly understood. The paediatric classification is different from the terminology currently used in adult MDS. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only curative option of treatment and children should be referred as soon as possible because of the risk of progression to advanced MDS and/or leukaemia. The prognosis is mainly associated with the HSCT. This review aims to alert to the existence of this rare syndrome in children and will focus on the classification, aetiology and genetics, diagnostic criteria and differential diagnosis, as well as treatment options and prognosis.

**Key-words:** myelodysplastic syndrome; children; aetiology; diagnosis; hematopoietic stem cell transplant.

## Abreviaturas

AA – Anemia Aplástica

AR – Anemia refratária

AREB – Anemia refratária com excesso de blastos

AREB-t – Anemia refratária com excesso de blastos em transformação

ARSA – Anemia refratária com sideroblastos em anel

DECH – Doença do enxerto contra o hospedeiro

FAB - *French-American-British*

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

IPSS – *International Prognostic Scoring System*

LMA – Leucemia mieloide aguda

LMMC – Leucemia Mielomonocítica Juvenil

MO – Medula óssea

OMS – Organização mundial de saúde

RCC – Citopenia refratária em crianças

SD – Síndrome de Down

SHFMO – Síndromes hereditárias de falência da medula óssea

SMD - Síndrome Mielodisplásica

SP – Sangue periférico

TCEH – Transplante de células estaminais hematopoiéticas

## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO -----	5
2. CLASSIFICAÇÃO -----	6
3. ETIOLOGIA E GENÉTICA -----	8
4. DIAGNÓSTICO -----	11
5. TRATAMENTO -----	15
6. CONCLUSÃO -----	18
7. BIBLIOGRAFIA -----	19

## SÍNDROME MIELODISPLÁSICA EM IDADE PEDIÁTRICA

A síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um grupo heterogêneo de anomalias malignas das células estaminais hematopoiéticas caracterizado por displasia e celularidade variável da medula óssea (MO), citopénias progressivas e propensão para transformação em leucemia. A SMD é uma das doenças hematológicas malignas mais comuns na população idosa, especialmente a partir dos 70 anos de idade. Em idade pediátrica é rara e apresenta uma incidência de 1 para um milhão por ano <sup>(1)</sup>, representando cerca de 4% de todas as doenças malignas hematológicas em crianças <sup>(2,3)</sup>. Muitas das características morfológicas, imunofenotípicas e genéticas da SMD em adultos estão presentes em crianças, no entanto algumas diferenças significativas são encontradas, particularmente em doentes que não apresentam elevação do número de blastos no sangue periférico (SP) e na MO <sup>(4)</sup>. Na tabela 1 encontram-se resumidas as principais diferenças entre a SMD em idade adulta e idade pediátrica.

SMD idade adulta	SMD idade pediátrica
1. Anemia Refratária com sideroblastos em anel é comum.	1. Anemia Refratária com sideroblastos em anel é extremamente rara.
2. SMD associada a deleção 5q isolada é comum e apresenta bom prognóstico.	2. SMD associada a deleção cromossômica (5q) isolada é muito rara.
3. Anemia isolada é o principal quadro de apresentação de Citopénia Refratária nos adultos.	3. Anemia isolada é uma apresentação incomum. Trombocitopénia e neutropénia são mais comuns.
4. A medula óssea é maioritariamente hiper celular.	4. Hipocelularidade da medula óssea é comum.
5. Anemia Refratária com Excesso de Blastos em Transformação (AREB-t) não foi mantida na nova classificação da OMS visto que se comporta como LMA.	5. AREB-t foi mantida na classificação pediátrica de SMD. Crianças com AREB-t apresentam contagens sanguíneas periféricas estáveis por semanas ou meses e não se comportam como LMA.
6. A diferenciação em AREB tipo 1 e tipo 2 baseada na percentagem de blastos na medula óssea e sangue periférico apresenta uma importante utilidade prognóstica.	6. AREB tipo 1 e 2; a distinção baseada na percentagem de blastos na MO e SP não é útil para o prognóstico.

Tabela 1. Principais diferenças entre SMD em adultos e crianças <sup>(4)</sup>.

O quadro clínico de apresentação da SMD na idade adulta é inespecífico e os sintomas estão relacionados com as citopénias presentes. Nos adultos manifesta-se principalmente com anemia isolada e em cerca de 20% dos casos trata-se de um achado acidental na realização de análises laboratoriais de rotina ou aquando da avaliação de outra patologia <sup>(5)</sup>. Em contraste com o que acontece nos adultos, nas crianças a SMD manifesta-se normalmente com citopénia de duas linhagens e raramente com anemia isolada <sup>(6)</sup>. A citopénia refratária das crianças (*Refractory Cytopenia of Childhood* –

RCC) é o subtipo pediátrico mais comum, contabilizando cerca de metade dos casos. Esta pode-se apresentar sob a forma de trombocitopénia ou neutropénia refratária, sendo a primeira mais comum <sup>(1)</sup>; a anemia refratária também pode ocorrer mas é rara. A presença de sintomas constitucionais como febre, perda de peso, sudorese noturna e anorexia, são menos comuns e normalmente representam manifestações tardias da doença ou de progressão.

## CLASSIFICAÇÃO

A SMD é classificada em primária ou secundária. Cerca de 20% das crianças com SMD primária podem ter um defeito genético que as predispõe a desenvolver esta síndrome numa idade mais jovem <sup>(4)</sup>. Em idade pediátrica, a SMD é frequentemente secundária em doentes com síndromes hereditárias de falência da medula óssea (SHFMO) <sup>(3)</sup> ou após quimioterapia ou radioterapia.

A primeira classificação para SMD foi criada em 1982 pelo grupo *French-American-British (FAB)* dividindo esta de acordo com a morfologia celular em cinco subgrupos: Anemia Refratária (AR), AR com sideroblastos em anel (ARSA), AR com excesso de blastos (AREB), Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC) e AREB em transformação (AREB-t) <sup>(7)</sup>. Esta classificação baseia-se na proporção de blastos no SP e na MO, presença de sideroblastos em anel na MO e contagem absoluta de monócitos periféricos. Em 2000, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou uma nova classificação de doenças neoplásicas hematopoiéticas e dos tecidos linfóides, apresentando nesta uma classificação de SMD diferente da publicada pela FAB. Nela incorpora não só as características morfológicas, mas também alterações genéticas. Na nova classificação da OMS, o diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) passou a ser feito aquando da observação de 20% ou mais blastos na MO e o subtipo AREB-t deixou de existir. Já tendo sido revista em 2008 <sup>(8)</sup>, a classificação da OMS foi novamente revista e modificada em 2016. As citopénias sempre foram um ponto fundamental na classificação e diagnóstico da SMD. A nomenclatura, nomeadamente, fazia referência ao tipo específico de citopénia. No entanto, a classificação da OMS apoia-se maioritariamente no grau de displasia e na percentagem de blastos, tendo as citopénias específicas um impacto menor na classificação. Além disso, o que se verifica na maioria dos casos é que a linhagem comprometida e com diminuição de produção é diferente daquela que apresenta displasia morfológica <sup>(9-11)</sup>. Por esta razão, a

terminologia utilizada na classificação dos adultos foi alterada como é possível observar na tabela seguinte.

Classificação OMS 2008 <sup>(41)</sup>	Classificação OMS 2016 <sup>(30)</sup>
Citopenia refratária com displasia de linhagem única <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Anemia refratária</li> <li>▪ Neutropenia refratária</li> <li>▪ Trombocitopenia refratária</li> </ul>	SMD com displasia de linhagem única
Citopenia refratária com displasia em linhagens múltiplas	SMD com displasia em linhagens múltiplas
Anemia refratária com sideroblastos em anel	SMD com sideroblastos em anel <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Com displasia em linhagem única</li> <li>▪ Com displasia em linhagens múltiplas</li> </ul>
SMD associada a deleção 5q	SMD com deleção 5q isolada
Anemia refratária com excesso de blastos-1	SMD com excesso de blastos tipo 1
Anemia refratária com excesso de blastos-2	SMD com excesso de blastos tipo 1
SMD não-classificado	SMD não-classificado <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Com 1% de blastos</li> <li>▪ Com displasia de linhagem única e pancitopenia</li> <li>▪ Baseado em anormalidade citogenética</li> </ul>
Citopenia refratária das crianças	Citopenia refratária das crianças (entidade provisória)

Tabela 2. Classificação OMS 2008 vs 2016.

No entanto, estas duas classificações foram baseadas em revisões e estudos retrospectivos realizados em adultos. O facto de a SMD ser uma doença rara em idade pediátrica e a falta da existência de uma classificação pediátrica contribuíram para que esta condição fosse pouco diagnosticada no passado. Deste modo, em 2000, foi criada uma classificação alternativa da OMS e modificada para casos pediátricos. Esta ao contrário da classificação nos adultos não teve alterações da terminologia ao longo destes últimos anos. A classificação pediátrica divide a SMD em citopenia refratária das crianças (RCC – *Refractory Cytopenia of Childhood*), anemia refratária com excesso de blastos (AREB) e AREB em transformação (AREB-t). Além disso, e segundo a classificação da OMS, ainda pode ser dividida em AREB 1 e 2 <sup>(12)</sup>, apesar de em idade pediátrica, essa diferenciação não se ter demonstrado prognóstica. Ao contrário dos critérios de diagnóstico diferencial com leucemia, o limite entre SMD e LMA em pediatria é feito com contagem de blastos superior ou igual a 30% e não 20%, como acontece em idade adulta.



---

I.	Síndrome Mielodisplásica/Mieloproliferativa
▪	Leucemia Mielomonocítica Juvenil
▪	Leucemia Mielomonocítica Crônica
▪	Leucemia Mielóide Crônica BCR-ABL negativa
II.	Doença associada a Síndrome de Down (SD)
▪	Mielopoiese anormal transitória
▪	Leucemia Mielóide da SD
III.	<b>Síndrome Mielodisplásica</b>
▪	Citopenia Refratária (CR)
○	Blastos no SP <2% e blastos na MO <5%
▪	Anemia Refratária com Excesso de Blastos (AREB)
○	Blastos no SP entre 2 e 19% e na MO entre 5 e 19%
▪	AREB em transformação (AREB-t)
○	Blastos no SP e na MO entre 20 e 29%

---

*Tabela 3. Categorias diagnósticas de doenças mielodisplásicas (MDS) e mieloproliferativas (MPN) em idade pediátrica. As doenças MDS/MPN e SD relacionadas foram removidas da classificação de SMD e são consideradas entidades biológicas distintas.*

## ETIOLOGIA E GENÉTICA

O estudo do cariótipo e de mutações genéticas em doentes com SMD revelaram que esta varia significativamente entre crianças e adultos. A incidência de SMD aumenta com a idade, sugerindo que múltiplos eventos cooperativos podem ser adquiridos durante a evolução da doença. Entre estes: exposição a genotóxicos, polimorfismos da linhagem germinativa afetando a atividade de enzimas detoxificantes e/ou respostas celulares a stress oxidativo e perda de habilidade de reparar danos no ADN <sup>(14)</sup>.

Anormalidades do cariótipo são comuns, ocorrendo em 30 a 50% dos casos <sup>(6)</sup>. Em contraste com as alterações encontradas no cromossoma 5 em adultos, que raramente são encontradas em pediatria, a monossomia 7 é a anormalidade citogenética mais comum em crianças e adolescentes. Esta ocorre em cerca de 30% dos casos de SMD primária e 50% dos casos secundários a radio- ou quimioterapia prévia <sup>(14)</sup>, sendo o segmento mais comumente deletado, o 7q22 <sup>(14,15)</sup>. A monossomia 7 também é encontrada na Leucemia Mielomonocítica Juvenil e em SHFMO sugerindo a associação entre estas patologias. Outras anormalidades citogenéticas menos comuns incluem: trissomia 8, deleção 20q e perda do cromossoma X, embora estas duas últimas sejam infrequentemente observadas. A trissomia 21 está também associada a SMD. Nos doentes com Síndrome de Down, a LMA não é infrequentemente precedida por uma pré-fase de SMD com trombocitopenia <sup>(1)</sup>. Cariótipos complexos envolvendo 3 ou mais alterações citogenéticas ocorre numa pequena percentagem de doentes e estão

associados a doença de alto risco com mau prognóstico <sup>(6,51)</sup>.

Os recentes avanços tecnológicos de sequenciação genética permitiram um aumento exponencial do conhecimento acerca da etiologia da SMD. Desde a descoberta de mutações somáticas em oncogenes (*NRAS/KRAS*) e genes supressores de tumores (*TP53*, *RUNX1*), novas várias mutações foram associadas a SMD nos últimos anos. Nestas inclui-se a identificação de reguladores epigenéticos (*TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *DNMT3A*, *IDH1/IDH2*), e mais recentemente, genes associados à maquinaria de *splicing* (*SF3B1*, *U2AF1*, *SRF2*) e genes de complexos de coesão (*STAG2*, *SMC3*, *RAD21*) foram associadas a SMD adultos <sup>(6,14,16)</sup>. Mutações somáticas em fatores de *splicing* e reguladores epigenéticos estão presentes em cerca de 75% dos casos de SMD em adultos, seguido de mutações isoladas do *TP53* e mutações em uma gama variada de genes associados a fatores de transcrição (*RUNX1*, *ETV6*, *GATA2*, *PHF6*), sinalização de cinases (*NRAS*, *KRAS*, *JAK2*, *CBL*) e genes de complexos de coesão; as mutações mais comuns podem ser observadas na tabela 4. No entanto, a maioria destas alterações, especialmente dos fatores de *splicing* e reguladores epigenéticos, não parecem estar presentes em crianças <sup>(53)</sup>. Um recente estudo de sequenciação de exões em grande escala em doentes com menos de 40 anos sugeriu que estes raramente apresentam mutações somáticas. As mutações mais comumente identificadas foram *DNMT3A*, *TET2* e *ASXL1*, sugerindo que mutações em vias epigenéticas acumuladas com a idade parecem apresentar um papel menos importante em crianças <sup>(54)</sup>. Baseado nesta informação, especula-se que a SMD pediátrica seja mais frequentemente associada a uma predisposição genética herdada.

<b>Função Genética</b>	<b>Gene</b>	<b>Frequência da mutação</b>
Reguladores epigenéticos e fatores de remodelação da cromatina	<i>TET 2</i>	15-25%
	<i>ASXL 1</i>	10-20%
	<i>DNMT 3a</i>	10%
	<i>IDH 1/2</i>	5-10%
Fatores de <i>splicing</i> de pre-mARN	<i>SF3B1</i>	15-30%
	<i>SRF2</i>	10-15%
	<i>U2AF1</i>	5-10%
Fatores de transcrição	<i>RUNX 1</i>	10-15%
	<i>TP53</i>	5-10%
Moléculas de sinalização	<i>N RAS/K RAS</i>	10%

*Tabela 4.* Mutações somáticas mais frequentemente observadas na SMD <sup>(29)</sup>.

Formas familiares não sindrômicas de SMD e LMA foram descritas, nomeadamente a identificação de mutações nos genes *RUNX1/AML1* em distúrbios familiares plaquetários e CEBPA com predisposição para LMA familiar <sup>(17,18)</sup>. Recentemente, foram identificadas mutações germinativas em *GATA2* e em *ETV6* levando a SMD familiar <sup>(19,55)</sup>. As mutações em *GATA2* foram associadas a 4 doenças aparentemente distintas: (1) SMD/LMA familiar autossômica dominante <sup>(56)</sup>; (2) Síndrome de Emberger, caracterizada por linfedema, verrugas e predisposição para SMD/LMA <sup>(57)</sup>; (3) Síndrome MonoMAC, uma síndrome de imunodeficiência caracterizada por monocitopenia marcada e linfopenia das células B e NK, resultando em suscetibilidade para infecções micobacterianas, Vírus do Papiloma Humano e outras infecções oportunistas virais e fúngicas <sup>(20-23)</sup>; (4) deficiência de células dendríticas, monócitos, células linfoides B e NK (*Natural Killer*)<sup>(31,40,52)</sup>; estas condições representam um grande grupo de alterações hematológicas, linfáticas e do sistema imune causadas por haploinsuficiência de *GATA2*. Estas formas familiares acima descritas vêm apresentar uma alternativa explicativa à etiologia identificada nos adultos, no entanto, os mecanismos genéticos subjacentes ainda permanecem incertos.

Quando considerada a hipótese diagnóstica de SMD em idade pediátrica, é imperativo ter em conta que esta é frequentemente secundária e está fortemente associada a síndromes hereditárias de falência da medula óssea, incluindo Anemia de Fanconi, Síndrome de Schwachman-Diamond, Trombocitopenia Amegacariocítica, Disqueratose congénita e Neutropenia congénita severa (Síndrome de Kostmann), pelo que estas patologias devem ser despistadas <sup>(1)</sup>.

Por fim, a exposição a agentes alquilantes e/ou radiação podem levar a desenvolvimento posterior de SMD e são também uma causa comum desta condição. Deleções dos cromossomas 7 e/ou 5 são frequentemente encontradas nestes casos <sup>(24)</sup>. Tratamentos com inibidores da topoisomerase estão associados a rearranjos MLL no segmento 11q23 <sup>(24)</sup>. Alterações no cromossoma 7 causadas por tratamento prévio estão associadas a metilação do promotor CDKN2B e mutações do *RUNX1*. Adicionalmente, alterações no cromossoma 5 estão relacionadas a mutações do *TP53* <sup>(25)</sup>. As mutações referidas acima são observadas em cerca de 90% dos casos de SMD relacionada com quimio- e/ou radioterapia <sup>(58)</sup>.

Condições Hereditárias
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Síndromes hereditárias de falência de Medula óssea (SHFMO) <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Anemia de Fanconi</li> <li>○ Síndrome de Shwachman-Diamond</li> <li>○ Neutropenia Congênita Severa</li> <li>○ Disqueratose congênita</li> <li>○ Anemia de Diamond-Blackfan</li> </ul> </li> <li>▪ Haploinsuficiência <i>GATA2</i> (Síndrome MonoMAC, Síndrome Emberger, MDS/AML familiar)</li> <li>▪ SMD familiar não sindrômica (<i>ETV6</i>, <i>RUNX1/AML1</i>, <i>CEBPA</i>)</li> <li>▪ SMD familiar (pelo menos um familiar em primeiro grau com SMD/LMA) sem causa genética identificada</li> <li>▪ Trissomia 8</li> </ul>
Condições Adquiridas
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Quimioterapia prévia</li> <li>▪ Radioterapia prévia</li> <li>▪ Anemia Aplástica adquirida</li> </ul>

Tabela 5. Condições hereditárias e adquiridas associadas a SMD pediátrica.

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de SMD pode ser difícil pois não existem parâmetros completamente sensíveis ou específicos desta patologia. Citopenias periféricas apresentam um vasto número de causas, assim como displasia periférica ou medular. Anormalidades citogenéticas semelhantes às observadas na SMD podem estar presentes transitoriamente em outras doenças, incluindo patologias megaloblásticas, anemia aplástica e anemia de Fanconi. A monossomia 7 não relacionada com nenhum outro sintoma ou sinal pode também estar presente transitoriamente e regredir espontaneamente ou com reposição de ácido fólico ou vitamina B12.

Pelo menos dois dos critérios seguintes devem estar presentes para diagnóstico de SMD:

- Citopenia(s) inexplicada refratária (neutropenia, trombocitopenia ou anemia)\*
- Mielodisplasia presente em duas linhagens ou superior a 10% em linhagem única
- Anormalidade clonal hematopoiética citogenética/genética
- Elevação do número de blastos superior a 5% na MO ou 2% no SP

\*Hemoglobina <10 g/dL; plaquetas < 100x10<sup>9</sup>/L; contagem absoluta de neutrófilos < 1.8x10<sup>9</sup>/L; raramente, o diagnóstico pode ser feito com níveis mais leves de citopenia, mas pelo menos 1 citopenia deve estar presente para se fazer o diagnóstico.

Tabela 6. Critérios Mínimos de Diagnóstico de SMD de acordo com a OMS.

A SMD em idade pediátrica deve ser considerada quando a existência de trombocitopenia, neutropenia e/ou anemia persiste durante mais de 3 meses em uma criança outrora saudável <sup>(28)</sup>. Neste caso, os sintomas poderão incluir fadiga, infecções de repetição, petéquias e hemorragias. No entanto, quando assintomáticos, as citopenias

poderão ser acidentalmente descobertas durante a avaliação de outra condição. Algumas pistas como uma anemia macrocítica com níveis de vitamina B12 e ácido fólico normais, granulócitos displásicos ou segmentação nuclear anormal em neutrófilos periféricos podem contribuir para a suspeita <sup>(26)</sup>.

Quando o diagnóstico de SMD é suspeitado numa criança há certos aspetos que devem ser considerados <sup>(1)</sup>:

- A SMD está fortemente associada a SHFMO;
- A LMA associada ao Síndrome de Down não é infrequentemente precedida de uma fase mielodisplásica com trombocitopénia;
- Existe uma mutação associada à transcrição do fator *GATA2* nas Síndromes MonoMAC e Emberger que predispõem à evolução para SMD/LMA.

Causas secundárias de displasia têm de ser excluídas. Causas não hematológicas, sistémicas, podem causar mielodisplasia e apresentar um quadro semelhante ao de RCC. Estas incluem infeções virais, especialmente Vírus Eptein-Barr, Citomegalovírus, Parvovírus, Vírus Herpes Simplex e Vírus de Imunodeficiência Humana; medicamentos, nomeadamente, antiepiléticos, antipsicóticos e antimetabólitos; doenças metabólicas; doenças mitocondriais, como a Síndrome de Pearson; doenças reumáticas, como a Artrite Juvenil Idiopática; e deficiências nutricionais, nomeadamente de vitamina B12, ácido fólico, vitamina E, ou cobre <sup>(26)</sup>.

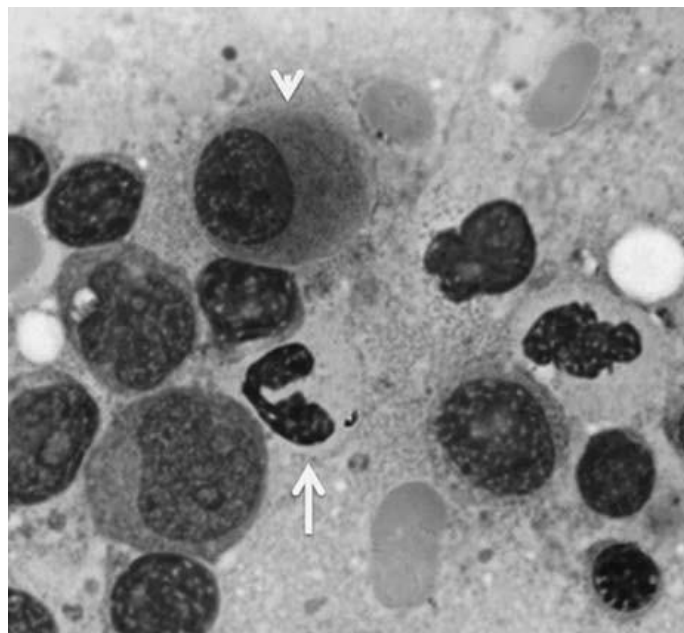
O diagnóstico é, em grande parte, morfológico e depende do aspirado e biópsia de medula óssea. Os estudos morfológicos tanto do SP como da MO constituem os componentes mais importantes do diagnóstico pediátrico, e muitas das alterações encontradas também estão presentes nos adultos. Enquanto na idade adulta a linhagem eritroide é a mais afetada, em pediatria a linhagem mieloide e megacariocítica são normalmente mais afetadas. Apesar de poderem ser identificadas alterações displásicas que são a favor de SMD, faltam-lhes especificidade para doença neoplásica. Logo, a exclusão de outras entidades etiológicas com caraterísticas displásicas pode ser necessária para o diagnóstico de SMD em idade pediátrica. As caraterísticas morfológicas de displasia, descritas na tabela 7, são idênticas às encontradas nos adultos, com uma exceção importante <sup>(27)</sup>. Os sideroblastos em anel são raros em idade pediátrica e quando presentes deve-se considerar possível diagnóstico de Síndrome de Pearson <sup>(28)</sup>.

<b>Sangue periférico</b>	
Granulócitos	Células Pseudo-Pelger, agregação anormal de cromatina, hipo-/desgranulação; desvio esquerdo;
Plaquetas	Plaquetas gigantes, anisocitose;
Eritrócitos	Anisocitose, poiquilocitose, eritrócitos dismórficos, policromasia, hipocromasia, alterações megaloblásticas, pontilhado basófilo, presença de precursors nucleados, dacriócitos, ovalócitos, eritrócitos fragmentados;
<b>Medula óssea</b>	
Eritropoiese	Alterações megaloblásticas, núcleos múltiplos, <i>budding</i> nuclear, pontes nucleares, mitoses atípicas, sideroblastocitose, sideroblastos em anel, precursores PAS ( <i>periodic Acid-Shiff</i> ) positivos;
Megacariopoiese	Micromegacariócitos, megacariócitos mononucleares, núcleo em forma de haltere, hipersegmentação, núcleos múltiplos e isolados;
Granulocitopoiese	Desvio esquerdo, elevação do número de blastos*, <i>Auer rods</i> , hipogranulação, células <i>Pseudo-Pelger</i> , <i>alterações nucleares</i>
<p>*Os blastos são normalmente mielóides, no entanto podem apresentar diferenciação megacarioblástica ou eritroide, ou apresentar uma população mista. A percentagem blástica tanto no SP como na MO deve ser quantificada em esfregaços com coloração <i>Wright-Giemsa</i> e não por citometria de fluxo ou imunohistoquímica.</p>	

Tabela 7. Sinais de displasia na SMD <sup>(29)</sup>.

Ao contrário do que acontece na SMD em adultos e idosos, em crianças esta está mais associada a medula óssea hipocelular <sup>(36)</sup> e pode tornar o diagnóstico diferencial com Anemia Aplástica (AA) difícil. A biópsia de MO pode também mostrar resultados morfológicos distintos e diferenças entre a SMD em crianças e adultos. Em adultos, a avaliação da celularidade na biópsia de MO pode ser útil visto que normalmente estes apresentam uma MO hipercelular, apesar das baixas contagens no SP. A RCC é o subtipo mais comum em idade pediátrica, e cerca de 80% destes casos revelam uma MO marcadamente hipocelular. Classicamente, na AA adquirida a MO é maioritariamente ocupada por gordura com células mielóides dispersas e sem ilhas eritroides, hiperplasia eritroide, micromegacariócitos ou granulócitos displásicos. No entanto, se a hipocelularidade for marcada e deixar apenas algumas células possíveis para observar, pode ser extremamente difícil distinguir SMD de AA com base apenas na biópsia <sup>(26)</sup>. Na presença de anormalidade citogénica faz-se diagnóstico de SMD. Esta, no entanto, não permite a diferenciação entre SMD primária ou secundária por Síndrome de Falência Medular Hereditária (SFMH). Por outro lado, a RCC deve ser diferenciada também da Hemoglobinúria Paroxística Noturna, que pode não se apresentar na sua forma fenotípica habitual <sup>(37-39)</sup>.

A imunohistoquímica tem aplicabilidade limitada no diagnóstico. A mieloperoxidase ou CD117 podem ser úteis na demonstração de precursores imaturos de localização anormal. Anticorpos para CD34, CD61 ou CD41, são úteis na identificação de pequenos megacariócitos e megacarioblastos, e a E-caderina pode ser útil na identificação de precursores eritroides imaturos.



*Figura 1.* Características mielodisplásicas em células da medula óssea, mostradas em aspirado. Nesta é observada um micromegacariócitos (cabeça de seta) e um neutrófilo hipogranular (seta) <sup>(26)</sup>.

A contagem do número de blastos é um parâmetro muito importante para identificação e classificação da mielodisplasia. Tanto nos adultos como nas crianças, uma percentagem de blastos de pelo menos 5% (mas inferior a 20%) na medula óssea ou de 2% (mas inferior a 20%) no sangue periférico define uma SMD de alto grau, AREB. Esta pode ainda ser dividida em AREB1 e AREB2 com um limiar de contagem blástica de 10% na MO e de 5% no SP, que separa os dois tipos. Apesar da distinção ter mostrado ser importante no prognóstico e tratamento a aplicar nos adultos <sup>(33,34)</sup> e de ser utilizada também nos casos pediátricos, a importância prognóstica desta ainda é incerta <sup>(35)</sup>.

A análise do cariótipo é essencial para a avaliação da SMD. Um grande número de alterações citogenéticas é encontrado com frequência variável na SMD, a maioria consistindo na perda ou ganho de grandes segmentos cromossômicos. As mais comuns em crianças são monossomia 7 ou deleção 7q, trissomia 8, deleção do 20q e rearranjos MLL (11q23). Translocações típicas associadas à LMA em crianças e jovens adultos

[t(15;17), t(8;21), inv(16) or t(16;16), t(9;11), t(11;17), t(11;19), t(8;16)] devem ser procuradas pois descartam o diagnóstico de doença relacionada com SMD <sup>(32)</sup>.

A análise de mutações comuns de SMD através de FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) não é importante no diagnóstico, quando alterações significantes do cariótipo estão presentes. No entanto, esta técnica pode ser adicionada para detecção de anormalidades específicas como SHFMO, mutações *GATA2* ou outras mutações associadas a SMD familiar.

## TRATAMENTO

A SMD pediátrica compreende um conjunto de doenças mais restrito que a população adulta. Teoricamente nas crianças, tal como nos adultos, podemos dividir a SMD em dois grupos consoante o risco de progressão para leucemia: SMD de baixo risco e de alto risco ou estadio avançado, onde se introduzem a RCC e a AREB, respetivamente.

A SMD é uma anomalia clonal dos precursores medulares, apresentando muito poucas células estaminais residuais não clonais. A terapia com transplante de células estaminais hematopoiéticas constitui o único tratamento com potencial curativo. Mais de 70% dos doentes com citopenia refratária e mais de 50% das crianças com SMD em estadio avançado são curadas com transplante alogénico de células estaminais realizado após o diagnóstico <sup>(42)</sup>. Tipagem HLA deve ser realizada tão cedo quanto possível para pesquisa de dador familiar ou não-familiar compatível. O transplante é um procedimento que acarreta vários riscos e cujos procedimentos apresentam vários efeitos adversos, pelo que cada caso referenciado para realização de TCEH deve ser discutido individualmente em equipa multidisciplinar.

A literatura referente aos resultados de TCEH é vasta e inclui uma gama de pequenos estudos retrospectivos que variam muito entre si quanto à terapia pre-transplante e regimes de condicionamento, fonte de células estaminais e profilaxia para a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). Num estudo com 61 crianças com SMD submetidas a transplante alogénico de medula óssea, Yusuf *et al* descreveu uma taxa de mortalidade em 3 anos de 50%, uma taxa livre de eventos de 41% e uma taxa de mortalidade não associada a recidiva de 28% e recidiva de 21%; sendo que doentes com citopenia refratária apresentavam taxas de sobrevivência em 3 anos de cerca de 74% e doentes com AREB-T apresentavam cerca de 5,5 vezes maior probabilidade de recidiva <sup>(43)</sup>. Strahm *et al* em análise retrospectiva do estudo EWOG-MDS 98 (*European Working*



*Group of MDS in Childhood*) em que 97 crianças com SMD e LMA associada a SMD foram submetidas a transplante de células estaminais hematopoiéticas de dador familiar HLA compatível e dador não familiar HLA compatível após regime mieloablativo com busulfano, ciclofosfamida e melfalano, reportou taxas de sobrevivência em 5 anos de 63% com taxas de mortalidade associadas ao tratamento de 21%; descreveu que idade no transplante superior a 12 anos, intervalo de tempo entre o diagnóstico e o transplante superior a 4 meses e ocorrência de DECH aguda ou crônica extensa estavam associadas a maior taxa de mortalidade associada ao tratamento e que taxas de recidiva maiores estavam sem dúvida associadas a estádios mais avançados <sup>(4)</sup>. Após o transplante, a taxa de mortalidade associada ao tratamento mieloablativo é a maior causa de falha terapêutica em crianças com citopénia refratária <sup>(44)</sup>. Transplantes em doentes com RCC realizados após regime de condicionamento de intensidade reduzida também já foram realizados apresentando taxas de sobrevivência e livre de eventos sobreponíveis às de regime mieloablativo, pelo que constituem uma alternativa aos regimes mieloablativos muito atrativa <sup>(44,45)</sup>; no entanto, estudos a longo prazo devem ser efetuados na tentativa de entender se estes regimes estarão ou não associados a maior taxa de recidiva. Num estudo com 37 doentes, Smith *et al* reportou taxas de sobrevivência em 10 anos de 53% e de sobrevivência livre de doença de 45%, taxa de mortalidade associada ao tratamento em 10 anos de 26% e taxa de mortalidade no primeiro ano de 25%; numa análise multivariável, fatores como transplante sem quimioterapia prévia e um intervalo de tempo entre o diagnóstico e o transplante inferior a 140 dias estavam associados a taxas de sobrevivência sem recidiva superiores, de 80% em 3 anos <sup>(2)</sup>. Estes estudos sugerem que crianças com SMD devem ser referenciadas tão rápido quanto possível para transplante de células estaminais hematopoiéticas, sendo curadas mais de metade das crianças. Em casos de estadio avançado dependente de transfusões e sem dador compatível, dadores familiares haploidênticos podem ser utilizados <sup>(46)</sup>. Com a evolução da terapia imunossupressora e da profilaxia para DECH, transplantes com dadores haploidênticos passou a ser mais utilizada quando necessária e apresentando menores taxas de mortalidade.

MDS secundária após terapia com agentes alquilantes pode ser esperada em 3-10% dos pacientes <sup>(47)</sup>. Está normalmente associada a deleções dos cromossomas 5 e 7, apresentando um prognóstico pior quando comparado com SMD primária. Transplante logo após o diagnóstico parece melhorar o prognóstico e a sobrevivência, apesar de não apresentar resultados tão favoráveis quanto a doença de baixo risco. Segundo o estudo

da EWOG-MDS 98, taxas de sobrevivência sem recidiva aos 3 anos, taxa de recidiva e taxa de mortalidade associada ao tratamento de 57, 14 e 33% respectivamente <sup>(48)</sup>.

O TCEH alogénico constitui o tratamento de escolha em doentes com monossomia 7 e cariótipo complexo (3 ou mais anomalias). No entanto, uma terapêutica expectante pode ser adotada em doentes estáveis sem necessidade de transfusões, citopénias graves ou infeções <sup>(4)</sup>. Nestes, a terapêutica de suporte pode constituir uma opção razoável e permitir a estabilidade da doença de semanas a anos. Apesar disso, o risco estimado de transformação clonal e progressão para leucemia em doentes com RCC é de cerca de 30% em 5 anos. Em adultos, o *International Prognostic Scoring System* (IPSS) tem sido útil como guia terapêutico, mas não foi validado para a SMD pediátrica e apresenta utilidade limitada <sup>(13,16)</sup>. Nos casos pediátricos a história natural da doença é muito variável, por exemplo, a RCC pode-se apresentar com um quadro assintomático e indolente, apresentando baixo risco de progressão para LMA. Por outro lado, formas mais agressivas como a AREB apresenta taxas maiores de transformação leucémica e pior prognóstico, e está comprovado que nestes casos, o prognóstico é melhor quanto mais cedo se proceder ao transplante de medula óssea <sup>(2,42)</sup>.

Outras opções de tratamentos, como terapêutica imunossupressora, agentes modificadores epigenéticos, quimioterapia de alta dose e fatores de crescimento hematopoiéticos, foram utilizados em crianças com SMD, mas até à data sem sucesso. Em 2004 foram aprovados pela FDA (*US Food and Drug Administration*) 3 novos agentes para o tratamento da SMD em adultos: azacitidina, decitabina e lenalidomida. A lenalidomida é um agente imunomodulador utilizada nos doentes com deleção 5q, enquanto a azacitidina e a decitabina constituem agentes hipometilantes; são utilizados na população adulta e têm vindo a demonstrar uma boa alternativa terapêutica. No entanto, nenhum destes agentes foi aprovado para uso em pediatria. Cseh *et al* realizou um estudo retrospectivo em 24 crianças que receberam tratamento com azacitidina após o diagnóstico de SMD e em doentes recidivantes após transplante demonstrando que este agente parece ser efetivo em algumas crianças com SMD e aparentando ser uma alternativa terapêutica não tóxica em situações paliativas capaz de prolongar a sobrevivência <sup>(49)</sup>. Alguns estudos sugerem a existência de padrões de metilação anormais em casos de doentes com SMD de alto risco <sup>(50)</sup>, podendo estes ou futuros agentes hipometilantes consistir de facto uma opção viável e promissora no tratamento da SMD em pediatria.

## CONCLUSÃO

A síndrome mielodisplásica compreende um grupo heterogêneo de anomalias clonais das células estaminais hematopoiéticas. Constitui uma entidade rara em crianças e adolescentes e o seu diagnóstico pode ser difícil. Doentes com citopénias prolongadas ou suspeitos de apresentarem SMD devem realizar aspirado e biópsia de medula óssea, assim como avaliação citogenética. Após o diagnóstico, a referência para TCEH é imperativa e a sua realização deve acontecer o quanto antes, curando mais de metade das crianças com SMD. O conhecimento em relação à fisiopatologia e genética subjacente a esta síndrome ainda é muito limitado e à medida que este evolui novas formas de tratamento irão aparecer. A análise multidisciplinar destes raros doentes e a colaboração de estudos em grande escala serão valiosos para melhorar a nossa perceção sobre esta síndrome.

**Conflito de interesses:** nenhum.

**Papel da fonte de financiamento:** nenhum.

## BIBLIOGRAFIA

1. Wynn R, Bhat R, Monagle P. Juvenile Myelomonocytic Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. In: Pediatric Hematology: A Practical Guide. First Edition. Cambridge University Press. 2017.
2. Smith, A. R., Christiansen, E. C., Wagner, J. E., Cao, Q., MacMillan, M. L., Stefanski, H. E. Verneris, M. R. (2013). Early hematopoietic stem cell transplant is associated with favorable outcomes in children with MDS. *Pediatric Blood & Cancer*, 60(4), 705–10. <https://doi.org/10.1002/pbc.24390>
3. Strahm, B., Nöllke, P., Zecca, M., Korthof, E. T., Bierings, M., Furlan, I., ... Locatelli, F. (2011). Hematopoietic stem cell transplantation for advanced myelodysplastic syndrome in children: results of the EWOG-MDS 98 study. *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K*, 98(January 1998), 1–8. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.297>
4. Chatterjee, T., & Choudhry, V. P. (2013). Childhood myelodysplastic syndrome. In *Indian Journal of Pediatrics* (Vol. 80, pp. 764–771). <https://doi.org/10.1007/s12098-013-1130-8>
5. Kardos, G., Baumann, I., Passmore, S. J., Locatelli, F., Hasle, H., Schultz, K. R., ... Niemeyer, C. M. (2003). Refractory anemia in childhood: A retrospective analysis of 67 patients with particular reference to monosomy 7. *Blood*, 102(6), 1997–2003. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-11-3444>
6. Hasle, H., Niemeyer, C. M., Chessells, J. M., Baumann, I., Bennett, J. M., Kerndrup, G., & Head, D. R. (2003). A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia*, 17(2), 277–282. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402765>
7. Bennett, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A. G., Gralnick, H. R., & Sultan, C. (1982). Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology*, 51(2), 189–199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1982.tb02771.x>
8. Swerdlow, S. H., Campo, E., Harris, N. L., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., ... Vardiman, J. . (2008). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. (Steven H. Swerdlow, E. Campo, N. L. Harris, E. S. Jaffe, S. A. Pileri, H. Stein, ... J. W. Vardiman, Eds.), *World Health*

- Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue* (Vol. 4th, p. 326). International Agency for Research on Cancer. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
9. Verburgh, E., Achten, R., Louw, V. J., Brusselmans, C., Delforge, M., Boogaerts, M., ... Verhoef, G. (2007). A new disease categorization of low-grade myelodysplastic syndromes based on the expression of cytopenia and dysplasia in one versus more than one lineage improves on the WHO classification. *Leukemia*, 21(4), 668–77. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404564>
  10. Germing, U., Strupp, C., Giagounidis, A., Haas, R., Gattermann, N., Starke, C., & Aul, C. (2012). Evaluation of dysplasia through detailed cytomorphology in 3156 patients from the Düsseldorf Registry on myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*, 36(6), 727–734. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2012.02.014>
  11. Maassen, A., Strupp, C., Giagounidis, A., Kuendgen, A., Nachtkamp, K., Hildebrandt, B., ... Germing, U. (2013). Validation and proposals for a refinement of the WHO 2008 classification of myelodysplastic syndromes without excess of blasts. *Leukemia Research*, 37(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2012.09.021>
  12. Vardiman, J. (2012, December). The classification of MDS: From FAB to WHO and beyond. *Leukemia Research*. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2012.08.008>
  13. Hasle H, Baumann I, Bergstrasser E, Fenu S, Fischer A, Kardos G, Kerndrup G, Locatelli F, Rogge T, Schultz KR, Stary J, Trebo M, van den Heuvel-Eibrink MM, Harbott J, Nollke P Niemeyer CM (2004) The International Prognostic Scoring System (IPSS) for childhood myelodysplastic syndrome (MDS) and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). *Leukemia* 18:2008–2014
  14. Niemeyer, C. M., & Baumann, I. (2008). Myelodysplastic Syndrome in Children and Adolescents. *Seminars in Hematology*, 45(1), 60–70. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2007.10.006>
  15. Le Beau, M. M., Espinosa, R., Davis, E. M., Eisenbart, J. D., Larson, R. A., & Green, E. D. (1996). Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases. *Blood*, 88(6), 1930–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.12.5484>
  16. Pitman, S. D., Victorio, A., Rowsell, E., Morris, J., & Wang, J. (2006). 5q-syndrome in a child with slowly progressive pancytopenia: A case report and

- review of the literature. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 28(3), 115–119. <https://doi.org/10.1097/01.mph.0000210410.48877.15>
17. Owen, C., Barnett, M., & Fitzgibbon, J. (2008). Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia--a review. *British Journal of Haematology*, 140(2), 123–32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06909.x>
  18. Liew, E., & Owen, C. (2011). Familial myelodysplastic syndromes: A review of the literature. *Haematologica*, 96(10), 1536–1542. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.043422>
  19. Stary J, Baumann I, Creutzig U, et al. (2008). Getting the numbers straight in pediatric MDS: distribution of subtypes after exclusion of down syndrome. *Pediatric Blood Cancer*;50:435–436.
  20. Vinh DC, Patel SY, Uzel G, et al. (2010). Autosomal dominant and sporadic monocytopenia with susceptibility to mycobacteria, fungi, papillomaviruses, and myelodysplasia. *Blood*;115: 1519–1529.
  21. Hsu AP, Sampaio EP, Khan J, et al. (2011). Mutations in GATA2 are associated with the autosomal dominant and sporadic monocytopenia and mycobacterial infection (MonoMAC) syndrome. *Blood*;118:2653–2655.
  22. Dickinson RE, Griffin H, Bigley V, et al. (2011). Exome sequencing identifies GATA-2 mutation as the cause of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *Blood*. 2011; 118:2656–2658.
  23. Ostergaard P, Simpson MA, Connell FC, et al. Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome). *Nat Genet*;43:929–931.
  24. Smith SM, Le Beau MM, Huo D, Karrison T, Sobecks RM, Anastasi J, et al. (2003). Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: The University of Chicago series. *Blood* 102:43-52.
  25. Pedersen-Bjergaard J, Christiansen DH, Desta F, Andersen MK. (2006) Alternative genetic pathways and cooperating genetic abnormalities in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 20:1943-1949.

26. Glaubach, T., Robinson, L. J., & Corey, S. J. (2014). Pediatric Myelodysplastic Syndromes: They Do Exist! *J Pediatr Hematol Oncol*, 36, 1–7. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000046>
27. Brunning RDAO, Germing U, Le Beau MM, et al. (2008). Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 88-93.
28. Chan GC, Head DR, Wang WC. (1999). Refractory anemia with ringed sideroblasts in children: two diseases with a similar phenotype?. *J Pediatr Hematol Oncol*. 21(5):418-23.
29. Fenaux P, Haase D, Sanz GF, Santini V, Buske C. (2014). Myelodysplastic syndromes : ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Annals of Oncology* 25(Suplement 3): iii57-iii69
30. Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M., ... Vardiman, J. W. (2016, May 19). The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>
31. Pasquet M, Bellanne-Chantelot C, Tavitian S, Prade N, Beaupain B, Larochelle O, Petit A, Rohrlisch P, Ferrand C, Van Den Neste E et al (2013) High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia. *Blood* 121:822– 829. doi:10.1182/blood-2012-08-447367
32. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. (2011). Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 364(26):2496-506.
33. Germing U, Strupp C, Kuendgen A, et al. (2006) Prospective validation of the WHO proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*;91: 1596–1604.
34. Cantu Rajnoldi A, Fenu S, Kerndrup G, et al. (2005). Evaluation of dysplastic features in myelodysplastic syndromes: experience from the morphology group of the European Working Group of MDS in Childhood (EWOG-MDS). *Ann Hematol*; 84:429–433.

35. Germing, U., Strupp, C., Kuendgen, A., Aivado, M., Giagounidis, A., Hildebrandt, B., ... Gattermann, N. (2006). Refractory anaemia with excess of blasts (RAEB): Analysis of reclassification according to the WHO proposals. *British Journal of Haematology*, 132(2), 162–167. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05853.x>
36. Kardos G, Baumann I, Passmore SJ, et al. (2003). Refractory anemia in childhood: a retrospective analysis of 67 patients with particular reference to monosomy 7. *Blood*;102:1997–2003.
37. van den Heuvel-Eibrink MM. (2007). Paroxysmal nocturnal hemo- globinuria in children. *Paediatr Drugs*;9:11–16.
38. Naseem S, Varma N, Trehan A. (2009). Primary/de novo paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in a child from north India: a case report with review of literature. *J Pediatr Hematol Oncol*;31:274–276.
39. van den Heuvel-Eibrink MM, Bredius RG, te Winkel ML, et al. (2005). Childhood paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH), a report of 11 cases in the Netherlands. *Br J Haematol*;128:571–577.
40. Bigley V, Haniffa M, Doulatov S, Wang XN, Dickinson R, McGovern N, Jardine L, Pagan S, Dimmick I, Chua I et al (2011) The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *J Exp Med* 208:227–234. doi:10.1084/jem. 20101459
41. Baumann I NC, Bennett JM, Shannon K. Childhood myelodysplastic syndrome. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (2008). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer;104-7.
42. Stary J, Locatelli F, Niemeyer CM. (2005). Stem cell transplantation for aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*.;35:S13–S16.
43. Yusuf U, Frangoul HA, Gooley TA, Woolfrey AE, Carpenter PA, Andrews RG, Deeg HJ, Appelbaum FR, Anasetti C, Storb R, Sanders JE. (2004). Allogeneic bone marrow transplantation in children with myelodysplastic syndrome or juvenile myelomonocytic leukemia: the Seattle experience. *Bone Marrow Transplant*;33(8):805-14.
44. Strahm B, Greil J & Kremens B *et al.* (2003). A new conditioning regimen for patients with refractory anemia and congenital disorders. *Bone Marrow Transplant*;31 Suppl 1: S26.



45. Strahm, B., Locatelli, F., Bader, P., Ehlert, K., Kremens, B., Zintl, F., ... Niemeyer, C. M. (2007). Reduced intensity conditioning in unrelated donor transplantation for refractory cytopenia in childhood. *Bone Marrow Transplantation*, 40(4), 329–333. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705730>
46. Lang, P., Greil, J., Bader, P., Handgretinger, R., Klingebiel, T., Schumm, M., ... Niethammer, D. (2004). Long-term outcome after haploidentical stem cell transplantation in children. *Blood Cells Mol Dis*, 33(3), 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2004.08.017>
47. Stary, J., Locatelli, F., & Niemeyer, C. M. (2005). Stem cell transplantation for aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplantation*, 35 Suppl 1, S13-6. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704836>
48. Niemeyer CM, Kontny U & Strahm B *et al.* (2002). SCT for children with secondary MDS: report from a multicenter study of the EWO-MDS. *Bone Marrow Transplant* ; 29: S3.
49. Cseh, A. M., Niemeyer, C. M., Yoshimi, A., Catala, A., Frühwald, M. C., Hasle, H., ... Flotho, C. (2016). Therapy with low-dose azacitidine for MDS in children and young adults: A retrospective analysis of the EWO-MDS study group. *British Journal of Haematology*, 172(6), 930–936. <https://doi.org/10.1111/bjh.13915>
50. Vidal DO, Paixao VA, Brait M, et al. (2007). Aberrant methylation in pediatric myelodysplastic syndrome. *Leuk Res*; 31: 175-181
51. Gohring G, Michalova K, Beverloo HB, Betts D, Harbott J, Haas OA, Kerndrup G, Sainati L, Bergstraesser E, Hasle H et al (2010) Complex karyotype newly defined: the strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome. *Blood* 116: 3766–3769. doi: 10.1182/blood-2010-04-280313
52. Bigley V, Collin M (2011) Dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency defines the lost lineages of a new GATA-2 dependent myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 96:1081– 1083. doi:10.3324/haematol.2011.048355
53. Hirabayashi, S., Flotho, C., Moetter, J., Heuser, M., Hasle, H., Gruhn, B., ... Wlodarski, M. W. (2012). Spliceosomal gene aberrations are rare, coexist with oncogenic mutations, and are unlikely to exert a driver effect in childhood MDS and JMML. *Blood*, 119(11). <https://doi.org/10.1182/blood-2011-12-395087>

54. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, Lindsley RC, Mermel CH, Burt N, Chavez A et al (2014) Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 371:2488–2498. doi:10.1056/NEJMoa1408617
55. Zhang MY, Churpek JE, Keel SB, Walsh T, Lee MK, Loeb KR, Gulsuner S, Pritchard CC, Sanchez-Bonilla M, Delrow JJ et al (2015) Germline ETV6 mutations in familial thrombocytopenia and hematologic malignancy. *Nat Genet* 47:180–185. doi:10.1038/ng.3177
56. Hahn CN, Chong CE, Carmichael CL, Wilkins EJ, Brautigan PJ, Li XC, Babic M, Lin M, Carmagnac A, Lee YK et al (2011) Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 43:1012–1017. doi:10.1038/ng.913
57. Ostergaard P, Simpson MA, Connell FC, Steward CG, Brice G, Woollard WJ, Dafou D, Kilo T, Smithson S, Lunt P et al (2011) Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome). *Nat Genet* 43:929–931. doi:10.1038/ng.923
58. Tsurusawa M, Manabe A, Hayashi Y, Akiyama Y, Kigasawa H, Inada H, Noguchi Y, Sawai N, Kobayashi R, Nagatoshi Y et al (2005) Therapy-related myelodysplastic syndrome in childhood: a retrospective study of 36 patients in Japan. *Leuk Res* 29:625–632. doi:10.1016/j.leukres.2004.11.018